ПАРАЗИТОЛОГИЯ, IX, 5, 1975

УДК 576.893.161.22 : 593.16

БИОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРОФОЗОИТОВ ЛЯМБЛИЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В СВЯЗИ С ВОПРОСАМИ СИСТЕМАТИКИ РОДА LAMBLIA

М. М. Соловьев

Отдел медицинской протозоологии ордена Трудового Красного Знамени Института
медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е. И. Марциновского
Министерства здравоохранения СССР, Москва

При изучении окрашенных препаратов лямблий человека (*L. intestinalis*), кролика (*L. duodenalis*), полевки (*L. microti*) и мышевидных грызунов (*L. muris* и *L. simoni*) показано, что совокупность биометрических показателей зрелых трофозоитов строго характерна для каждого вида.

Жгутиконосцы рода *Lamblia* Blanchard, 1888 являются паразитами тонкого кишечника рептилий, птиц и млекопитающих. Известно свыше 30 видов данного рода (Ansari, 1951), однако основным критерием при описании большинства из них являлся просто факт находки у животного, у которого эти паразиты ранее не обнаруживались. Решение вопроса о действительной самостоятельности описанных видов осложняется вследствие того, что трофозоиты и цисты их построены по общему плану, имеют одинаковый набор и расположение органоидов.

Существенным аргументом в пользу самостоятельности видов лямблий могла бы оказаться специфичность их по отношению к своим хозяевам. Однако опыты перекрестного заражения животных лямблиями разных видов дают противоречивые результаты. По данным ряда авторов (Simon, 1922; Lavier, 1924; Горицкая, 1963; Лалова, 1970, и др.), изученные виды лямблий оказывались стеноксенными, тогда как другие исследователи (Сокуренко, 1955; Наурузбаева, 1969; Падченко и Столярчук, 1969, и др.) описывали их способность заражать разных хозяев.

Еще Бензен (Bensen, 1908) обратил внимание на то, что несмотря на одинаковое строение лямблий, различные виды могут различаться по соотношению частей тела трофозоита. Он отметил, что трофозоиты паразита мышевидных грызунов, *L. muris*, в отличие от остальных видов имеют короткое, почти округлое тело с укороченной хвостовой частью. Позднее Хегнер (Hegner, 1922) предложил для дифференциации видов биометрический метод, основанный на сравнении абсолютных и относительных размеров трофозоита. Данный метод впоследствии использовался во многих работах (Lavier, 1924; Travis, 1939; Ansari, 1951, и др.), но результаты их были подвергнуты критике в обстоятельном исследовании Филиса (Filice, 1952). Проанализировав данные литературы и собственный материал, этот автор пришел к заключению, что веские основания имеются для обособления лишь одного вида — уже упоминавшейся *L. muris*. Кроме своеобразной формы тела, трофозоиты этого вида выделяются благодаря округлой форме специфичных для лямблий медиальных тел.[1] Что касается подавляющего большинства остальных видов, то трофозоиты их имеют грушевидную форму и вытянутые медиальные тела, пересекающие под углом продольную ось тела. Биометрические характеристики этих видов, приводимые различными авторами, настолько противоречивы, что, по мнению Филиса, не могут служить аргументом в пользу их самостоятельности. Каких-либо детальных исследований по систематике лямблий после цитированной работы не проводилось, в связи с чем вопрос о реальности видового статуса для большинства из описанных видов фактически остается открытым.

---

[1] Этот термин был предложен Филисом взамен ранее применявшегося названия «парабазальные тела» на основание того, что он отрицал гомологию этих органоидов

Одной из причин противоречивости данных, полученных при биометрических исследованиях трофозоитов лямблий, может быть разнородность сравниваемых популяций в возрастном отношении. Различное соотношение крупных (зрелых) и мелких (растущих) трофозоитов должно существенно влиять на результаты измерений. Однако погрешность этого рода может быть устранена при помощи простого методического приема. Известно (Lavier, 1939; Соловьев, 1963), что медиальные тела всегда присутствуют у лямблий, вступивших в деление, исчезают в процессе его и отсутствуют у молодых особей. При выборе для измерений только особей с медиальными телами возрастной состав изучаемой популяции может быть значительно нивелирован. Данный прием и был использован в настоящей работе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования выполнялись со следующими видами лямблий.

1. *L. intestinalis* (Lambl, 1859) — паразит человека. Три штамма (№ 1, 2 и 3) получены из содержимого двенадцатиперстной кишки (зондирование) больных из лечебных учреждений Москвы.

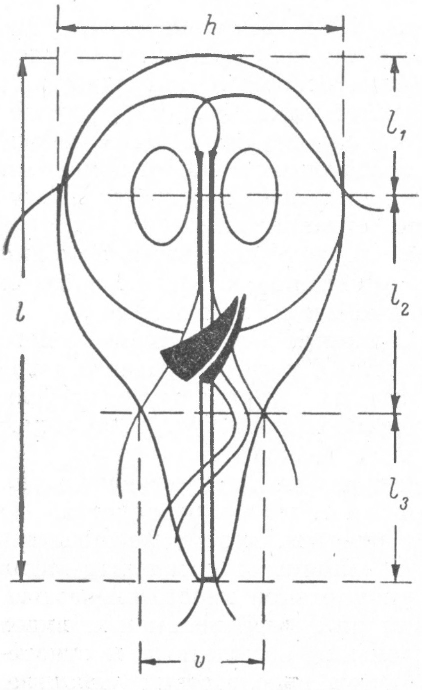

Рис. 1. Схема промеров трофозоита лямблий.

h — ширина тела на уровне центров ядер; *v* — ширина тела у основания «хвостовой части»; *l* — длина тела, l_1, l_2 и l_3 — длина отдельных отрезков тела.

2. *L. duodenalis* (Davaine, 1875) — паразит кролика. Изучено три штамма, два из которых (№ 4 и 5) получены из постоянных культур, поддерживаемых на модифицированной среде Карапетяна (Соловьев с соавт., 1971), а один (№ 6) — непосредственно из кишечника кролика.

3. *L. microti* Kofoid et Christiansen, 1915 — паразит полевки *Microtus arvalis*. Изучено два штамма (№№ 7 и 8), полученных из кишечника полевок, отловленных в окрестностях Москвы.

4. *L. muris* (Grassi, 1879) — паразит мышевидных грызунов. Один из штаммов этого вида (№ 9) получен из кишечника мыши, а второй (№ 10) — из кишечника крысы.

5. *L. simoni* Lavier, 1924 — паразит крысы. Этот вид, обнаруженный впервые Симоном (Simon, 1922), отличается от *L. muris* удлиненными трофозоитами и формой медиальных тел. Трофозоиты штамма № 11 этого вида получены из кишечника лабораторной крысы.

Измерения проводили на постоянных препаратах, фиксированных в жидкости Шаудина и окрашенных железным гематоксилином, по Гейденгайну. Для получения препаратов был разработан метод, основанный

собственно парабазальным телам, описанным у трихомонад. Электронно-микроскопические исследования трихомонад (Хонигберг с соавт., 1969 и др.) и лямблий (Cheissin 1964; Friend, 1966) подтвердили его точку зрения.

на способности трофозоитов лямблий прикрепляться к поверхности стекла. Микроаквариумы для культивирования лямблий (Соловьев, 1962) заполняли взвесью трофозоитов в модифицированной среде Карапетяна, инкубировали 1 час при 37°, после чего нижние стекла с прикрепившимися лямблиями отделяли, ополаскивали теплым раствором Хенкса и фиксировали. Использование данного метода позволило получать очень «чистые» (лишенные белковых примесей) препараты с трофозоитами, однообразно ориентированными относительно плоскости стекла.

В двух-трех препаратах каждого штамма измеряли по 50 трофозоитов, имеющих медиальные тела. Измерения проводили на микроскопе МБИ-3 (объектив × 90, масляная иммерсия, апохромат, окуляр — × 20) при помощи рисовального аппарата контуры трофозоита наносили на лист бумаги и пересчитывали в соответствии с масштабом объект-микрометра. Основными биометрическими характеристиками трофозоита служили длина тела, ширина на уровне центров ядер и отношение между ними. Кроме этого, определяли размеры различных участков тела в соответствии со схемой на рис. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты измерения длины и ширины тела трофозоитов различных штаммов приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Длина тела трофозоитов лямблий, имеющих медиальные тела (по 50 особей для каждого штамма) (в мкм)

Вид	№№ штаммов	Амплитуда и среднее значение	Стандартное отклонение	Средняя ошибка (*p*)
L. intestinalis	1	11.4—18.3 14.20	1.39	0.20
	2	13.2—17.4 15.72	0.87	0.12
	3	12.9—17.7 15.25	1.09	0.15
L. duodenalis	4	15.0—19.5 17.45	0.99	0.14
	5	15.0—19.5 17.02	1.16	0.16
	6	15.0—19.5 17.56	0.93	0.13
L. microti	7	11.4—15.6 12.83	0.70	0.10
	8	10.5—14.1 12.35	0.95	0.13
L. muris	9	9.0—12.0 10.38	0.68	0.10
	10	9.0—11.7 10.42	0.73	0.10
L. simoni	11	11.1—14.7 13.5	0.82	0.12

Наибольшую длину тела имели трофозоиты *L. duodenalis*. Средние значения показателя для штаммов этого вида лежали в пределах от 17.02 ло 17.56 мкм. Средняя длина трофозоитов штаммов *L. intestinalis* колебалась от 14.20 до 15.72 мкм. Различия в средних значениях длины тела пограничных штаммов обоих видов статистически вполне достоверны ($p > 0.99$). В свою очередь штамм № 1 *L. intestinalis*, имеющий наименьшую среднюю длину тела, достоверно ($p > 0.99$) отличался от штамма *L. simoni*, у которого величина этого показателя равнялась 13.15 мкм. Статистически достоверна разница между этим видом и штаммами *L. microti*, а также между *L. microti* и *L. muris*.

Таблица 2

Ширина тела на уровне центров ядер трофозоитов лямблий, имеющих медиальные тела (по 50 особей для каждого штамма) (в мкм)

Вид	№№ штаммов	Амплитуды и среднее значение	Стандартное отклонение	Средняя ошибка (p)
L. intestinalis	1	6.3—9.3 7.47	0.68	0.10
	2	6.9—8.4 7.75	0.44	0.06
	3	7.2—9.0 8.08	0.45	0.06
L. duodenalis	4	7.8—10.2 8.97	0.34	0.05
	5	8.1—9.6 8.97	0.44	0.06
	6	8.4—10.2 9.06	0.45	0.06
L. microti	7	5.4—7.2 6.18	0.40	0.06
	8	5.1—7.2 5.94	0.43	0.06
L. muris	9	6.0—7.5 6.87	0.33	0.05
	10	6.0—7.2 6.75	0.32	0.05
L. simoni	11	6.0—7.8 6.90	0.44	0.06

Наиболее крупные и по ширине тела оказались трофозоиты *L. duodenalis*, далее следовали штаммы *L. intestinalis* и *L. simoni*. Различия между средними значениями для пограничных штаммов всех перечисленных видов статистически достоверны ($p > 0.99$). Однако средняя ширина тела трофозоитов *L. simoni* оказалась близкой к соответствующему показателю штаммов *L. muris* ($p < 0.95$). Наименьшую ширину тела имели трофозоиты *L. microti*, отличаясь достоверно от наиболее близких к этому виду *L. muris* и *L. simoni*.

На рис. 2 представлены доверительные интервалы при 95%-м уровне значимости для средних значений длины и ширины тела всех изученных штаммов. Как видно из диаграммы, штаммы каждого вида образуют хорошо очерченные группы, которые не перекрывают друг друга. Обращает на себя внимание то, что штаммы *L. microti*, *L. simoni*, *L. intestinalis* и *L. duodenalis* располагаются вдоль диагонали графика, тогда как штаммы *L. muris* смещены к его нижней части. Это обстоятельство связано с меньшим отношением длины к ширине тела у трофозоитов этого вида.

Таблица 3

Отношение длины к ширине тела у трофозоитов лямблий, имеющих медиальные тела (по 50 особей для каждого штамма)

Вид	Количество штаммов	Колебания у разных штаммов	Среднее по виду средняя ошибка (p)
L. intestinalis	3	1.87—2.08	1.92±0.04
L. duodenalis	3	1.89—1.95	1.92±0.04
L. microti	2	2.08—2.09	2.08±0.03
L. muris	2	1.51—1.58	1.52±0.02
L. simoni	1	—	1.91±0.02

Действительно, как это можно видеть из табл. 3, отношение длины к ширине тела трофозоитов у *L. muris* составило в среднем 1.52, достоверно отличаясь ($p > 0.99$) от соответствующего показателя остальных видов. Среднее значение этого показателя оказалось практически одинаковым у видов *L. intestinalis*, *L. duodenalis* и *L. simoni*, но было несколько более высоким у *L. microti*.

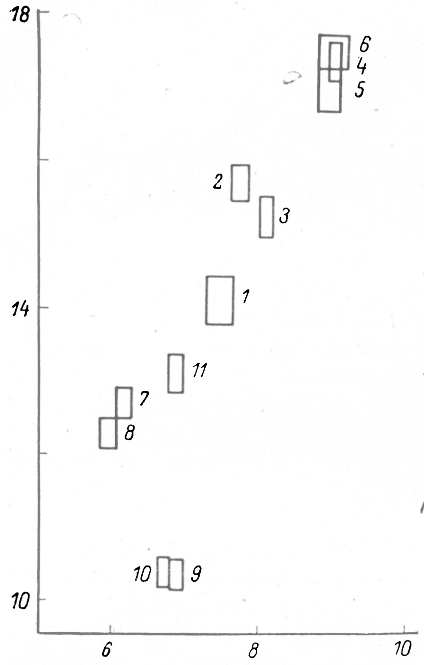

Рис. 2. Распределение штаммов изученных видов лямблий по длине и ширине тела трофозоитов.

1—3 — штаммы *L. intestinalis*; *4—6* — штаммы *L. duodenalis*; *7*, *8* — штаммы *L. microti*; *9*, *10* — штаммы *L. muris*; *11* — штамм *L. simoni*. По оси абсцисс—ширина тела на уровне центров ядер, по оси ординат — длина тела (в мкм). Стороны прямоугольников на графике соответствуют доверительным интервалам значений длины и ширины тела при 95% уровне значимости.

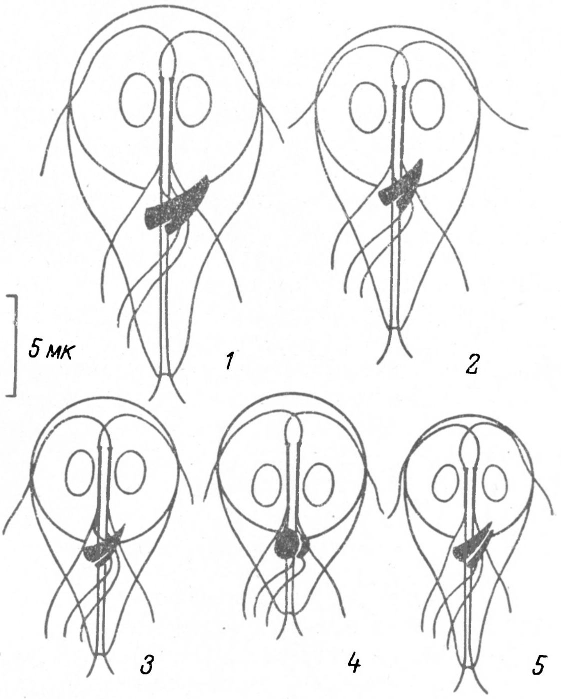

Рис. 3. Схематическое изображение трофозоитов лямблий в соответствии с их средними размерами.

1 — *L. duodenalis*; *2* — *L. intestinalis*; *3* — *L. simoni*; *4* — *L. muris*; *5* — *L. microti*.

Средние значения длины и ширины тела для каждого из изученных видов, а также средние размеры отдельных участков трофозоитов приведены в табл. 4. На рис. 3 даны изображения трофозоитов, построенные в соответствии с полученными для них средними размерами. Представленные данные наглядно иллюстрируют различия между изученными видами. По общей форме тела среди них выделяется *L. muris*. У остальных видов форма тела сходна, но они различаются по

Таблица 4

Средние размеры лямблий пяти изученных видов. Обозначения в соответствии с рис. 1

Виды	Длина тела				Ширина тела	
	общая (l)	отрезки			на уровне центров ядер (h)	на уровне основания «хвоста» (v)
		(l_1)	(l_2)	(l_3)		
L. duodenalis	17.34±0.25*	4.69±0.04	6.57±0.05	6.08±0.09	9.00±0.04	4.70±0.04
L. intestinalis	15.03±0.28	4.12±0.04	6.01±0.07	4.90±0.08	7.78±0.04	3.91±0.05
L. simoni	13.15±0.12	3.51±0.06	5.32±0.08	4.32±0.11	6.90±0.02	3.02±0.05
L. microti	12.59±0.14	3.00±0.04	4.57±0.06	5.02±0.09	6.06±0.03	2.97±0.05
L. muris	10.40±0.14	3.79±0.04	4.51±0.05	2.10±0.05	6.81±0.02	3.02±0.05

---

* Среднее значение ± средняя ошибка (p).

абсолютным размерам. Наиболее крупные трофозоиты имеет *L. duodenalis*, за ней следует *L. intestinalis*, *L. simoni* и, наконец, *L. microti*. Следует отметить, что различия между всеми видами оказались настолько четкими, что после некоторой тренировки их удавалось различать на постоянных препаратах на глаз, даже не прибегая к промерам.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты настоящего исследования показали, что все пять изученных видов лямблий надежно различаются по совокупности биометрических характеристик трофозоитов. Противоречивость данных литературы в этом направлении, послужившая основанием для критики их Филисом (Filice, 1952), несомненно связана с тем, что сравниваемые популяции видов различались по соотношению молодых и зрелых трофозоитов. Существенно, что в нашем материале *L. muris* был представлен штаммами, полученными от разных животных: мыши и крысы, а *L. duodenalis* — штаммами из кишечника кролика и из культуры in vitro. Отсутствие заметных различий между популяциями одного и того же вида, обитающими в разных условиях, очевидно, означает, что размеры трофозоитов детерминированы генетически и поэтому могут использоваться для систематики данной группы простейших.

При рассмотрении вопросов систематики лямблий необходимо учитывать, что к ним близок другой род жгутиконосцев, *Giardia*, единственный представитель которого, *G. agilis*, является паразитом кишечника амфибий. Трофозоиты этого вида отличаются от лямблий «червеобразной формой» и «колбасовидными» медиальными телами. В то же время они имеют тот же план строения, что и лямблии, в связи с чем Алексеев (Alexeieff, 1914) счел возможным объединить оба рода. В этом случае правильным наименованием родового таксона должно быть не *Lamblia* Blanchard, 1888, а предложенное ранее *Giardia* Kunstler, 1882. Точку зрения Алексеева разделяют многие зарубежные протозоологи, в том числе и Филис, работа которого цитировалась выше. Как уже отмечалось, этот автор отрицал самостоятельность большинства из описанных видов рода и счел возможным оставить лишь три истинных, по его мнению, вида с признаками *G. agilis*, *G. intestinalis* и *G. muris*.

Данные приведенные в нашей работе, показывают, что *L. intestinalis*, *L. duodenalis*, *L. simoni* и *L. microti*, отнесенные Филисом к одному и тому же виду, имеют тем не менее достаточные различия, позволяющие считать их самостоятельными видами. Из этого, очевидно, следует, что самим видам, выделенным этим автором необходимо придать таксономический ранг более высокий, чем видовой. В этом случае останутся самостоятельными родами *Lamblia* и *Giardia*, что находится в соответствии с точкой зрения, принятой в отечественной литературе. Однако наряду с этим придется разделить и род *Lamblia*. Данное наименование было фактически предложено для паразита человека *L. intestinalis* и поэтому должно быть сохранено для видов, близких к нему морфологически, т. е. для большинства описанных видов. Что касается паразита мышевидных грызунов, *L. muris*, то для него будет необходимо ввести новый подродовой или даже родовой таксон, вопрос о наименовании которого требует еще дальнейшего уточнения. В пользу обособления этого вида наряду с упомянутыми своеобразной формой трофозоитов и медиальных тел свидетельствуют и установленные недавно особенности ультраструктуры. При электронно-микроскопическом изучении трофозоитов *L. muris* (Соловьев и Ченцов, 1966; Friend, 1966) у них была описана поверхностная, подковообразная структура ячеистого строения, окружающая пелликулу присасывательного диска. Подобной структуры не обнаружено у трофозоитов *L. duodenalis* (Cheissin, 1964) и *L. intestinalis* (Morecki, Parker, 1967).

Предложенный в настоящей работе способ нивелирования возрастного состава популяций лямблий делает биометрический метод пригодным как при описании новых видов, так и при пересмотре самостоятельности уже описанных. Кроме этого, он может быть использован и для контроля опытов по изучению специфичности лямблий к своим хозяевам. Мы уже отмечали, что имеющийся материал в данном направлении противоречив. Основной причиной этого, очевидно, является трудность исключения спонтанной инфекции у животного-реципиента. Оценка средних размеров трофозоитов, обнаруженных у реципиента, может явиться надежным критерием для решения вопроса, принадлежат ли они к виду, которым производилось заражение, или к естественным паразитам данного животного.

Литература

Горицкая В. В. 1963. Некоторые вопросы эпидемиологии лямблиоза. Тр. Укр. респ. научн. общ. паразитологов, 2 : 29—33.

Лалова И. 1970. К вопросу о видовой специфичности Lamblia intestinalis и L. muris. Мед. паразитол., 39 (6) : 674—676.

Наурузбаева Э. Ч. 1969. О возможном участии мышей в передаче возбудителя лямблиоза. Вести. зоологии, 5 : 90—92.

Падченко И. К. и Столярчук Н. Г. 1969. О возможном участии собаки в эпидемиологии лямблиозной инвазии. Проблемы паразитологии. Тр. 4-й научн. конф. паразитологов УССР. Киев, 1 : 380—382.

Сокуренко А. Е. 1955. Биологические основы эпидемиологии лямблиоза. Тр. инст. зоологии и паразитологии АН КиргССР, 3 : 225—232.

Соловьев М. М. 1962. К методике культивирования лямблий. Мед. паразитол., 31 (6) : 744—745.

Соловьев М. М. 1963. Изучение процесса деления Lamblia duodenalis в культуре. Мед. паразитол., 32 (1) : 96—101.

Соловьев М. М., Акимова Р. Ф. и Шмакова В. И. 1971. Выделение и поддержание культур Lamblia duodenalis на модифицированной среде Карапетяна. Мед. паразитол. 40 (1) : 75—78.

Соловьев М. М., Ченцов Ю. С. 1966. Электронно-микроскопическое изучение Lamblia muris в связи с особенностями экологии паразита. Мед. паразитол., 35 (6) : 667—672.

Хонигберг Б. М., Мэттерн К. Ф. Т. и Даниел В. А. 1969. Значение электронно-микроскопических исследований для понимания эволюции трихомонад. Усп. протозоол. 3-й Межд. конгр. протозоологов, Л. : 400—401.

Alexeieff A. 1914. Notes protistologiques. 8. Sur la revision des genres de l'ordre des Polymastigina Blochman. Zool. Anz., 44 (5) : 193—213.

Ansari A. R. 1951. Contribution a l'etude du genre Giardia Kunstler, 1882 (Mastigophora, Octomitidae). I. Tableau sinoptique des especes connues et de quatre especes nouvelles. Ann. Parasit. Hum. Comp. 26 (5—6) : 477—496.

Bensen W. 1908. Bau und Arten der Gattung Lamblia. Zeitschr. Hyg. Infekt., 61 : 109—114.

Cheissin E. M. 1964. Ultrastructure of Lamblia duodenalis. I. Body surface, sucking disc and median bodies. J. Protozool. 11 (1) : 91—98.

Filice F. P. 1952. Studies on the cytology and life history of a Giardia from the laboratory rat. Univ. California Publ. Zool. 57 : 53—146.

Friend S. D. 1966. The fine structure of Giardia muris. J. Cell. Biology. 29 (2) : 317—332.

Hegner R. W. 1922. A comparative study of the Giardias living in man, rabbit and dog. Amer. J. Hyg., 2 (4) : 442—454.

Lavier G. 1924. Deux especes de Giardia du rat d'egout Parisien (Epimus norvegicus). Ann. Parasit. 2 : 161—168.

Lavier G. 1939. Le mode de division des formes vegetatives dans le genre Giardia. C. R. Soc. Biol. 132 (25) : 452—455.

Morecki R. and Parker J. C. 1967. Ultrastructural studies of the human Giardia lamblia and subjacent jejunal mucosa in a subject with steattorhea. Gastroenterol. 52 (2) : 151—164.

Simon C. E. 1922. A critique of the supposed rodent origin of human giardiasis. Amer. J. Hyg. 2 (4) : 406—433.

Travis B. V. 1939. Descriptions of the five new species of flagellates Protozoa of genus Giardia. J. Parasit. 25 (1) : 11—17.

BIOMETRICAL STUDIES OF TROPHOZOITES OF LAMBLIA FROM MAMMALS IN REGARDS TO THE TAXONOMY OF THE GENUS LAMBLIA

M. M. Solovjev

SUMMARY

Measurements were conducted of five species of Lamblia mounted and stained with ferreous hematoxylin. In order to obtain comparable results only mature trophozoites with medial bodies were measured. It was shown that the totality of biometrical indices of mature trophozoites is specific for each species studied; this demonstrates their distinct status and is contrary to Filice's view (1952). Of the studied species trophozoites of man (L. intestinalis), rabbit (L. duodenalis), vole (L. microti) and rat (L. simoni) have the same shape of the body but differ in absolute sizes. Trophozoites of the parasite of mice and rats, L. muris, differ from other species in a shorter body and in having spherical medial bodies. In this connection a question is raised concerning the according of a higher taxonomic status to this species.